

日 本 国 特 許 庁

14.08.98

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application: 1997年 7月25日

REC'D 02 OCT 1998

WIPO

PCT

出 願 番 号

Application Number: 平成 9年特許願第200571号

出 願 人

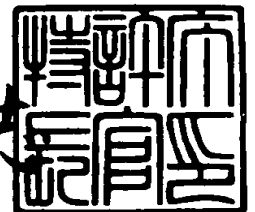
Applicant(s): サントリー株式会社

PRIORITY DOCUMENT

1998年 9月18日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

山 建 志



出証番号 出証特平10-3073797

【書類名】 特許願
【整理番号】 973871
【提出日】 平成 9年 7月25日
【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿

【国際特許分類】 C12N 15/54

【発明の名称】 糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

【請求項の数】 11

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市稲毛区小仲台6-33-7-A101

【氏名】 鞆 志忠

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市中央区弁天4-12-6

【氏名】 山崎 真巳

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県八街市榎戸663-86

【氏名】 斉藤 和季

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー
株式会社 基礎研究所内

【氏名】 水谷 正子

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー
株式会社 基礎研究所内

【氏名】 田中 良和

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー
株式会社 基礎研究所内

【氏名】 久住 高章

【特許出願人】

【識別番号】 000001904

【氏名又は名称】 サントリー株式会社

【代理人】

【識別番号】 100077517

【弁理士】

【氏名又は名称】 石田 敬

【電話番号】 03-5470-1900

【選任した代理人】

【識別番号】 100087871

【弁理士】

【氏名又は名称】 福本 積

【選任した代理人】

【識別番号】 100088269

【弁理士】

【氏名又は名称】 戸田 利雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100082898

【弁理士】

【氏名又は名称】 西山 雅也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 036135

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9300154

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子。

【請求項2】 配列番号1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列を有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質、あるいはそれらのアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されているアミノ酸配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

【請求項3】 配列番号1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

【請求項4】 配列番号1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して50%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

【請求項5】 配列番号1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列の一部又は全部に対して、5×SSC、50℃の条件下でハイブリダイズすることができ、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。

【請求項6】 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子を含んでなるベクター。

【請求項7】 請求項6に記載のベクターにより形質転換された宿主。

【請求項8】 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子によってコードされる蛋白質。

【請求項9】 請求項7に記載の宿主を培養し、又は成育させ、そして該宿主からフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質を採取することを特徴とする該蛋白質の製造方法。

【請求項10】 請求項1～5のいずれか1項に記載の遺伝子が導入された

植物もしくはこれと同じ性質を有するその子孫又はそれらの組織。

【請求項11】 請求項11に記載の植物又はこれと同じ性質を有するその子孫の切花。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子及びその利用方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

花産業は新規かつ種々の品種を開発することに努力している。新規な品種の育成のための有効な方法の一つとして花の色を変えることがあり、古典的な育種方法を用いて、ほとんどの商業的品種について広範囲な色を生成することに成功している。しかしながら、この方法では種ごとで遺伝子プールが制限されていることから、単一の種が広範囲の種類の着色品種を有することは稀である。

【0003】

花の色は主として2つのタイプの色素、即ちフラボノイド及びカロチノイドに基づき、フラボノイドは黄色から赤ないし青色の範囲に寄与し、カロチノイドはオレンジ又は黄色の色調に寄与する。花色に主たる寄与をするフラボノイド分子はシアニジン、デルフィニジン、ペチュニジン、ペオニジン、マルビジン及びペラルゴニジンの配糖体であるアントシアンであり、異なるアントシアンが顕著な花の色の変化をもたらす。さらに花の色は無色のフラボノイドの補助発色、金属錯体形成、グルコシル化、アシル化、メチル化及び液胞のpHにより影響される (Forkmann, Plant Breeding, 106, 1, 1991)。

【0004】

フェニルアラニンから始まるアントシアニンの生合成経路はよく理解されており (例えばPlant Cell, 7, 1071-1083, 1995)、生合成に関わる遺伝子はほとんどクローニングされている。たとえば、シソのアントシアニンであるマロニルシソニン (3-O-(6-O-(p-クマロイル) - β -D- グルコシル) -5-O-(6-O-マロニル-

β -D-グルコシル)-シアニジン)の生合成にかかわると考えられる遺伝子のうち、そのホモログが現在までに報告されていないものはフラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼ、UDP-グルコース:アントシアニン(フラボノイド)5-O-グルコシルトランスフェラーゼ(以下5GT)、マロニル基転移酵素遺伝子のみである。

【0005】

このうち、フラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼはチトクロームP450遺伝子のファミリーに属することが知られており(Plant Cell, 7、1071-1083, 1995)チトクロームP450遺伝子は互いに構造的な相同性を示すことが推察される。

一般に、フラボノイド分子の3位の水酸基はグルコースによって修飾されているが、グルコシル化をはじめとした糖による修飾は、アントシアニンの安定性と溶解性を増大させると考えられている(The Flavonoids, Chapman & Hall, 1994)。

【0006】

この反応を触媒するUDP-グルコース:アントシアニンあるいはフラボノイド3-グルコシルトランスフェラーゼ(以下3GT)をコードする遺伝子はトウモロコシ、大麦、金魚草、リンドウなどの多くの植物から得られており、アミノ酸配列はお互いに有意の相同性を示す。たとえば、単子葉植物のトウモロコシと双子葉植物のリンドウの3GTのアミノ酸配列の相同性は32%、単子葉植物のトウモロコシとオオムギの3GTのアミノ酸配列の相同性は73%、双子葉植物のリンドウとナスの3GTでは46%である。

また、ペチュニアのUDP-ラムノース:アントシアニン3-グルコシドラムノシルトランスフェラーゼ(3RT)をコードする遺伝子もクローニングされている。

【0007】

ところが、多くの植物のフラボノイドの5位の水酸基がグルコシル化されているのにも関わらず、この反応を触媒する酵素(5GT)の遺伝子は未だに得られていない。

また、ペチュニアやストックのアントシアニンの5位に糖を転移する反応を測

定した例はある (Planta 160, 341-347, 1984、Planta, 168, 586-591, 1986) が、これらの報告は花卉の粗抽出液か部分精製したものを用いて、酵素学的性質を調べたに留まっており、この酵素を純粋な形にまで精製した例はない。また、一般に糖転移酵素は生化学的に不安定であり、酵素の精製は困難である。

【0008】

フラボノイド分子に糖が付加されることによるその色調の変化はほとんどないが、色調に大きな影響を与える芳香族アシル基はアントシアニン内のグルコース分子やラムノース分子に起こるために転移するため、糖転移反応を制御することはアントシアニンの生合成を制御し、ひいては花の色を制御する上で重要である。なお糖転移酵素遺伝子の発現を調節して花の色を変えた例として、ペチュニアの3RTによる反応を形質転換ペチュニアにおいて制御し、花の色を修飾した例がある。

形質転換可能な植物としては、例えばバラ、キク、カーネーション、ガーベラ、ペチュニア、トレニア、トルコギキョウ、カランコエ、チューリップ、グラジオラスなどが知られている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】

そこで、本発明者らは、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を得ることを課題とし、本発明を完成した。

例えばキクのアントシアニン並びにバラおよびカーネーションのアントシアニンの一部は5位の水酸基がグルコシル化されていない。本発明で得られた5GT遺伝子をこれらの植物に導入する事により、アントシアニンの構造を変えることができる。

【0010】

また、国際公開公報；WO96/25500に記載されているアシル基転移酵素遺伝子を用いてフラボノイドをアシル化することにより、花色を変化させることや、フラボノイドを安定化させることが可能であるが、アシル基は直接フラボノイドと結合するのではなく、糖を介して結合するため、アシル基転移酵素遺伝子を導入しただけでは、花色の変化が十分でなかったり、安定化しない場合もあ

る。

しかしながら、アシル基転移酵素遺伝子と同時に5GT遺伝子を導入することにより、フラボノイドの5位に糖を転移させ、さらにそれをアシル化することができ、アントシアニンの構造が変わり、花の色は青くなることも期待される。

【0011】

—また、—アントシアニンの5位がグルコシル化されている植物の5GT遺伝子の発現をアンチセンス法やコサプレッション法などで抑制すれば、アントシアニンの生合成を阻害することができ、その結果花の色を変化させることができる。たとえば、リンドウやトルコギキョウで5GT活性を抑制すれば、花の色は赤くなることが期待される。

【0012】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、遺伝子組換え技術を用いてシソ、トレニアおよびバーベナから5GTのcDNAを単離し、構造遺伝子の塩基配列を決定した。すなわち、これらの植物でアントシアニンの発現している組織に存在する5GTをコードしているDNA配列を提供するものである。さらに、本酵素はアントシアン系色素の5位に糖を転移するため、花色の変化に利用することができ、アントシアニンの安定性を増すことができる。

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明の酵素をコードするDNAを得るには、例えばディファレンシャルディスプレイ(Differential display)法を用いることができる。例えば、シソ(*Perilla frutescens*)においては、アントシアニンを蓄積する品種(例えば紫薫)とアントシアニンを蓄積しない品種(例えば青薫)があり、アントシアニンを蓄積する品種には存在するがアントシアニンを蓄積しない品種には存在しないDNAをクローニングすれば、本発明の酵素をコードするDNAが得られる可能性がある。

【0014】

より具体的には、紫薫の葉及び青薫の葉からRNAを抽出し、常法に従ってc

DNAを合成し、これを電気泳動により分離し、紫薫由来のcDNAライブラリー中に存在し、青薫由来のcDNAライブラリー中には存在しないcDNAを単離する。次にこうして得られたcDNAをプローブとして用いて、紫薫由来のcDNAライブラリーをスクリーニングし、本発明の酵素をコードするDNAを得る。

上記のようにして本発明の酵素をコードするcDNAが得られれば、このcDNA又はその断片をプローブとして用いて、他の植物からのcDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、その植物由来の本発明の酵素をコードするDNAを得ることができる。

【0015】

本発明においては、上記のスクリーニングの例として、ディフェレンシャルディスプレイによりシソ由来の本発明の酵素をコードするDNAをクローニングし（実施例1）、次にこうして得られたDNAをプローブとしてバーベナ（*Verbena hybrida*）からのcDNAをスクリーニングすることによりバーベナ由来の本発明の酵素をコードするDNAを得（実施例2）、さらに同様にしてトレニア由来の本発明の酵素をコードするDNAを得た（実施例3）。

そして、これらのDNAが、本発明の酵素の活性を有する蛋白質を発現することを確認した。

【0016】

本発明のDNAとしては、例えば配列番号：1～4のいずれかに記載するアミノ酸配列をコードするものが挙げられる。しかしながら、複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質も、もとの蛋白質と同様の酵素活性を維持することが知られている。従って本発明は、配列番号：1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び／又は他のアミノ酸により置換されている修飾されたアミノ酸配列を有し、なお、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明に属する。

【0017】

本発明はまた、配列番号：1～4のいずれかに記載の塩基配列もしくはそこに

記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列又はそれらの部分、例えばコンセンサス領域の6個以上のアミノ酸をコードする部分に対して、例えば2ないし5×SSC、例えば5×SSC、50℃の条件下でハイブリダイズし、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。なお、最適なハイブリダイゼーション温度は塩基配列やその長さにより異なり、塩基配列が短くなるに従ってハイブリダイゼーション温度は低くするのが好ましく、例えばアミノ酸6個をコードする塩基配列（18塩基）の場合は、50℃以下の温度が好ましい。

【0018】

このようなハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子としては、天然由来のもの、例えば植物由来のもの、例えば、バーベナやトレニア由来の遺伝子が挙げられるが、他の植物、例えばペチュニア、バラ、カーネーション、ヒアシンス等由来の遺伝子であってもよい。また、ハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子は、cDNAであってもよく、ゲノムDNAであってもよい。

【0019】

本発明はさらに、配列番号：1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上、好ましくは50%以上、例えば60%又は70%以上、場合によっては90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。すなわち、実施例に示すごとく、本発明の酵素をコードするDNAは他の糖転移酵素遺伝子と比較して20～30%の相同性を示す。従って、本発明は、配列番号：1～4に記載のアミノ酸配列と30%以上の相同性を示し、且つ糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を含む。

【0020】

また、実施例1～3の結果の比較から明らかな通り、本発明の酵素のアミノ酸配列は種によって異なり、種間の相同性は50%以上（実施例3参照のこと）、例えば60～70%（実施例2参照のこと）であり、さらに同一種由来の酵素のアミノ酸配列の相同性は90%以上（実施例1参照のこと）である。従って本発明は、配列番号：1～4に記載のアミノ酸配列に対して、50%以上、例えば60

～70%以上、場合によってはさらに90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つ本発明の糖転移酵素活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明の範囲である。

生来の塩基配列を有するDNAは、実施例に具体的に記載するように、例えばcDNAライブラリーのスクリーニングにより得られる。

【0021】

また、修飾されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAは、生来の塩基配列を有するDNAを基礎にして、常用の部位特定変異誘発やPCR法を用いて合成することができる。例えば、修飾を導入したい部位を含むDNA断片を、上記により得られたcDNA又はゲノミックDNAの制限酵素消化により得、これを鋳型にして、所望の変異を導入したプライマーを用いて部位特定変異誘発又はPCR法を実施し、所望の修飾を導入したDNA断片を得、これを、目的とする酵素の他の部分をコードするDNAに連結すればよい。

【0022】

あるいはまた、短縮されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAを得るには、例えば目的とするアミノ酸配列より長いアミノ酸配列、例えば全長アミノ酸配列をコードするDNAを、所望の制限酵素により切断し、得られたDNA断片が目的とするアミノ酸配列の全体をコードしていない場合には、不足部分を合成DNAを連結することにより補えばよい。

また、このクローンを大腸菌及び酵母での遺伝子発現系を用いて発現させ、酵素活性を測定することにより、得られた遺伝子が糖転移酵素をコードしていることを確認し、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素遺伝子の翻訳領域を明らかにすることにより本発明に係る糖転移酵素をコードする遺伝子が得られ、更に、当該遺伝子を発現させることにより遺伝子産物である目的のフラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素蛋白質を得ることができる。

【0023】

あるいはまた、配列番号1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列に対する抗体を用いても、前記蛋白質を得ることができる。

従って本発明はまた、前記のDNAを含んでなる組換えベクター、特に発現ベ

クター、及び該ベクターにより形質転換された宿主に関する。宿主としては、原核生物又は真核生物を用いることができる。原核生物としては、細菌、例えばエシェリヒア (Escherichia) 属に属する細菌、例えば大腸菌 (Escherichia coli)、バシルス (Bacillus) 属微生物、例えばバシルス・ズブチリス (Bacillus subtilis)、等常用の宿主を用いることができる。

【0024】

真核性宿主としては、下等真核生物、例えば真核性微生物、例えば真菌である酵母又は糸状菌が使用できる。酵母としては、例えばサッカロミセス (Saccharomyces) 属微生物、例えばサッカロミセス・セレビスiae (Saccharomyces cerevisiae) 等が挙げられ、また糸状菌としてはアスペルギルス (Aspergillus) 属微生物、例えばアスペルギルス・オリゼ (Aspergillus oryzae)、アスペルギルス・ニガー (Aspergillus niger)、ペニシリウム (Penicillium) 属微生物等が挙げられる。さらに、動物細胞又は植物細胞が使用でき、動物細胞としては、マウス、ハムスター、サル、ヒト等の細胞系が使用される。さらに、昆虫細胞、例えばカイコの細胞、又はカイコの成虫それ自体も宿主として使用される。

【0025】

本発明の発現ベクターは、それらを導入すべき宿主の種類に依存して発現制御領域、例えばプロモーター及びターミネーター、複製起点等を含む。細菌用発現ベクターのプロモーターとしては、常用のプロモーター、例えば *trc* プロモーター、*tac* プロモーター、*lac* プロモーター等が使用され、酵母用プロモーターとしては、例えばグリセロアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター、*PH05* プロモーター等が使用され、糸状菌用プロモーターとしては例えばアミラーゼ、*trp C* 等が使用される。また、動物細胞宿主用プロモーターとしてはウイルス性プロモーター、例えば *SV40* アーリープロモーター、*SV40* レートプロモーター等が使用される。

【0026】

発現ベクターの作製は、制限酵素、リガーゼ等を用いて常法に従って行うことができる。また、発現ベクターによる宿主の形質転換も、常法に従って行うことができる。

前記蛋白質の製造方法においては、前記の発現ベクターにより形質転換された宿主を培養、栽培又は飼育し、培養物等から常法に従って、例えば、濾過、遠心分離、細胞の破碎、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー等により目的とする蛋白質を回収、精製することができる。

【0027】

なお、本明細書においてはシソ、バーベナ及びトレニア由来の、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素（本発明において、単に「糖転移酵素」と言う場合がある）について述べているが、当該酵素の精製法をそのまま又は一部を改変して、他の植物の糖転移酵素を精製し、当該酵素に係るアミノ酸配列を決定することにより、当該酵素をコードする遺伝子をクローニングすることができる。更に、本発明に係るシソ由来の糖転移酵素のcDNAをプローブとして用いることにより、シソから別の糖転移酵素のcDNA、他の植物から別の糖転移酵素のcDNAを得ることができた。従って、糖転移酵素の遺伝子の一部または全部を用いると、他の糖転移酵素遺伝子を得ることができる。

【0028】

また、本明細書において示したように、シソ、バーベナ又はトレニア由来の糖転移酵素を精製し、常法に従って当該酵素に対する抗体を得ることにより、その抗体と反応する蛋白質を作るcDNA又は染色体DNAをクローニングすることができる。従って、本発明はシソ、バーベナ及びトレニア由来の糖転移酵素の遺伝子のみに限定されるものではなく、広く糖転移酵素に関するものである。

さらに本発明は、糖転移酵素の遺伝子を導入することにより、色が調節された植物もしくはその子孫又はそれらの組織に関するものであり、その形態は切花であってもよい。

また、本明細書においてはアントシアンを含むフラボノイドの糖転移反応において、糖の供与体としてUDPグルコースが挙げられる。

【0029】

【実施例】

以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明する。実験の手順は特に記述しない限りMolecular Cloning (Cold Spring Harbor, 1989)、新生物化学実験のてびき第3巻(化学同人1996)、国際公開公報; WO96/25500に記載の方法に従った。

【0030】

実施例1. 赤ジソで特異的に発現している遺伝子のクローニング

(1) デファレンシャルディスプレイ

シソ (*Perilla frutescens*) には、葉にアントシアニンを蓄積する品種(例えば紫薫(サカタのタネ))とアントシアニンを蓄積しない品種(例えば、青薫(サカタのタネ))があり、主要なアントシアニンの構造はマロニルシソニン (3-O-(6-O-(p-クマロイル) - β -D- グルコシル) -5-O-(6-O-マロニル- β -D- グルコシル) - シアニジン) であることが報告されている (Agri.Biol. Chem. 53:197-198, 1989)。

デファレンシャルディスプレイは、Science 257, 967-971 (1992) に報告された方法で、組織特異的に発現する遺伝子を得る事などに用いられている。

【0031】

上記2種のシソの葉からホットフェノール法 (Plant Molecular Biology Manual, Kluwer Academic Publishers 1994 pp.D5/1-13) により全RNAを抽出した。得られた全RNAからmRNAセパレーターキット (Clonetech 社) を用いてポリA+RNAを精製した。0.9 μ g のポリA+RNAをアンカーを付加したオリゴdTプライマー (GenHunter 社のH-T11G、H-T11A、H-T11C) を用いて反応液33 μ l で、逆転写し、一本鎖cDNAを得た。このcDNAを鋳型にし、同じアンカーを付加したオリゴdTプライマーと合成プライマー (GenHunter 社のH-AP1 から8) をプライマーとし、PCRを行った。

【0032】

PCRの反応液の体積は20 μ l で、2 μ l のcDNA溶液、0.2 μ M のH-T11G、H-T11A、H-T11Cのいずれかのプライマー、0.2 μ M のH-AP1 から8 のいずれかのプライマー、0.12 μ M dNTP、5 あるいは10 μ Ciの[32P] dCTP、10mM Tris-HCl

(pH9.0)、50 mM KCL、0.01% Triton X-100、1.25 mM $MgCl_2$ 、1 ユニットの Taq ポリメラーゼを含んでいた。反応条件は、以下の通り。72℃で20秒間保持した後、94℃30秒、40℃2分、72℃30秒を1サイクルとした反応を40サイクル繰り返し、72℃で5分間保持した。

【0033】

以上のようにして増幅したDNA断片をDNA塩基配列を決定する際のポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離した。ゲルを乾燥後、X線フィルムに露光した。得られたバンド約2,600のうち、2種の品種のシソを比べ、紫薫でのみみられたバンドは36本であった。これらを乾燥したゲルから切り出し、100 μ lの水に溶出した。溶出したDNAをエタノール沈殿し、20 μ lの水に溶解した。この内半分量のDNAを鋳型にし、上記に述べたPCR反応をそれぞれ行い、33種のバンドについてDNA断片を増幅できた。このDNA断片を用いて、ライブラリーのスクリーニングとノザン解析を行った。

【0034】

(2) ノザン解析

以上の33種のDNAプローブを用いて以下の方法でノザン解析を行った。紫薫と青薫由来のポリA+RNAを1.2%アガロースを含むホルマリンゲルで分離後、ナイロン膜に転写した。この膜を5XSSPE、5Xデンハルト液、0.5% SDS、20 μ g/mlの変性鮭DNA存在下で65℃で一晩、 ^{32}P で標識した上記DNAプローブとハイブリダイズさせた。ハイブリダイズした膜を1XSSPE、0.1%SDS溶液中で、65℃で洗浄し、オートラジオグラフィーを得た。その結果、5種のプローブのみが紫薫で特異的に発現していた。これらのクローンはアントシアニンの生合成に関わる遺伝子であることが予想される。

【0035】

(3) cDNAライブラリーのスクリーニング

紫薫の葉から得たポリA+RNAを用い、コンプリートラップドクローニングシステム λ gt10(アマーシャム社)を用いて λ gt10をベクターとするcDNAライブラリーを作製した。このcDNAライブラリーを先に述べた5種のDNA断片を用いてスクリーニングし、それぞれに対応するcDNAを得た。このうち、

3 R 5 と名付けたクローンは、H-T11A と H-AP3 のプライマーに由来する DNA 断片を用いて、得られたもので、すでに報告されているトウモロコシのフラボノイド-3-O- 糖転移酵素にアミノ酸レベルで約 26 % のホモロジーを示した。

【0036】

~~また、同じプローブを用いたライブラリーのスクリーニングで 3 R 4 および 3 R 6 としたクローンが得られ、これらは 3 R 5 と非常に高いホモロジーを示した。~~
3 R 4 および 3 R 6 の全塩基配列と推定アミノ酸配列をそれぞれ配列表・配列番号 1 と配列番号 2 に示した。また 3 R 4 と 3 R 6 にコードされるタンパク質の推定アミノ酸配列は 92 % の相同性を示した。

【0037】

8 R 6 と名付けたクローンは、H-T11G と H-AP8 のプライマーに由来する DNA 断片を用いて、得られたもので、今までに報告されている DNA 塩基配列とは有意のホモロジーを示さなかった。この配列を配列表・配列番号 5 に示した。8 R 6 は、アントシアニンの生合成に関わる遺伝子である可能性が強いが、その構造が今までに報告されている遺伝子と相同性がないことから、アントシアニン生合成に関わる新規遺伝子であることが予想される。

【0038】

シソのアントシアニン（前述のマロニルシソニン）の構造を考慮すれば、本遺伝子はマロニル基転移酵素であることが予想される。これを証明するには、この遺伝子を酵母や大腸菌で発現させ、アントシアニンとマロニル CoA を基質として反応させればよい。このような実験は、例えば国際公開公報；WO96/25500 に記載してある方法を用いて行うことができる。マロニル基転移酵素遺伝子もアントシアニンの構造を人為的に改変する上で、有用である。

【0039】

（4）酵母における 3 R 4 の cDNA の発現

p 3 R 4 の BstXI 切断部位を T4 DNA ポリメラーゼ（宝酒造）を用いて平滑化し、さらにアダプター内の BamHI 切断部位で切り出して得られる約 1.5 kb の DNA 断片と、p YE 22 m の EcoRI 切断末端を平滑化し、さらに BamHI 消化して得られる約 8 kb の DNA 断片を連結して得られるプラスミドを p Y 3 R 4 とした

【0040】

なお、pYE22mを有する大腸菌JM109株は、Escherichia coli SBM335と命名し、FERM BP-5435として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。~~pY3R4において、糖転移酵素をコードしている~~
cDNAは、酵母の構成的なプロモーターのひとつであるグリセロアルデヒド3リン酸脱水素酵素のプロモーターの下流に連結されており、同プロモーターにより転写が制御されている。

【0041】

pY3R4を用いて、酵母サッカロミセス・セレビシエ（Saccharomyces cerevisiae）G1315（Ashikari et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 30, 515-520, 1989）を伊藤らの方法（Ito et al. J. Bacteriol., 153, 163-168, 1983）で形質転換した。形質転換された酵母はトリプトファンの合成能の回復により選択した。得られた形質転換株を10mlの、1%カザミノ酸（Difco 社）を含むバークホルダー培地（Burkholder, Amer. J. Bot. 30, 206-210）にて、30℃で24時間振盪培養した。

【0042】

併せて、対照実験のために、トリプトファンの合成能を自然に回復した酵母も同様に培養した。これらを集菌後、懸濁バッファー（100 mM リン酸バッファー（pH 8.5）、0.1%（v/v）2-メルカプトエタノール、10 μ M APMSF、100 μ M UDP-グルコース）に懸濁し、ガラスビーズ（Glass Beads 425-600microns Acid-Wash、シグマ社）を加えて激しく振盪することにより磨砕した。これを15,000 rpm、20分遠心した上清を粗酵素液とし、以下の酵素活性測定に用いた。

【0043】

（5）酵素活性の測定

粗酵素液 20 μ l を含む50 μ l 反応液（100 mM リン酸バッファー（pH 8.5）、670 μ M シアニジン-3- β -D-グルコシド、1 mM UDP-グルコース）を30℃、10分反応させ後、0.1% TFAを含む50% アセトニトリル溶液50 μ l を添加し反応を停止させた。15,000rpm、5分遠心した上清をサンプル LCR4(T)-LC（

ミリポア社)を通して不溶物を除いた。これを液体高速クロマトグラフィー (HPLC) で分析した。分析は逆相カラム (Asahipak ODP-50, 4.6mm ϕ *250mm 昭和電気株式会社製) を用い移動相はA溶液は0.5% TFA/H₂O、B溶液は0.5% TFA 50%CH₃CN、流速は0.6 ml/min. で B20% →B100 % (20min)の後B100% 5min保持のグラジェントで溶出した。

【0044】

分析には反応溶液20 μ l を供した。検出にはA520 nm, AUFS 0.5 (島津SPD-10A) とフォトダイオードアレイ検出器 (島津SPD-M6A) による600-250 nmの吸収を用いた。pY3R4を発現させた酵母の粗酵素液を反応させたものでは、基質シアニジン-3- β -グルコシド (展開時間17分) に加え、14.5分に展開される新たな物質が生成した。これは対照実験の酵母の粗酵素液を反応させたものでは見られないことから、pY3R4に由来するタンパク質の活性によって生じたものと考えられる。シアニジン-3,5- β -グルコシドとのコクロマトグラフィーの結果、この反応生成物の展開時間はシアニジン-3,5- β -グルコシドのものと一致し、また両者の吸収スペクトルも一致した。以上のことから、シソの3R4のcDNAは5GTをコードすることがわかった。

【0045】

実施例2. バーベナ (Verbena hybrida) の5GT遺伝子のクローニング

(1) cDNAライブラリーの作製

バーベナ品種花手鞠バイオレット (サントリー) から花卉を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法によりRNAを抽出し、オリゴテックス (宝酒造) を用いて製造者が推奨する方法にて ポリA+RNAを得た。グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法は、R. McGookin, Robert J. Slater らの、Methods in Molecular Biology vol 2, (Humana Press Inc. 1984) に詳細に示されている方法に従った。

【0046】

得られたポリA+RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cDNA合成キットを用いて2本鎖cDNAを合成し、さらにUni-ZAP XRクローニングキット (スト

ラタジーン社)を用いて、製造者の推奨する方法でcDNAライブラリーを作製した。

【0047】

(2) 5GTのcDNAのクローニング

上記のようにして得られたλファージライブラリーをシソのp3R4のcDNAをプローブとして以下のようにしてスクリーニングした。フィルターをハイブリダイゼーションバッファー (5X SSC, 50% ホルムアミド、50 mM リン酸ナトリウムバッファー (pH 7.0)、1% SDS、2% Blocking reagent (ベーリンガー社)、0.1% ラウロイルサルコシン、80 µg/ml サケ精子DNA) 中で42 °Cで1時間保持した。DIG標識したシソの5GT遺伝子、p3R4のDNA断片を、ハイブリダイゼーション液中に加え、さらに16時間のインキュベーションを行った。

【0048】

洗浄液 (5 X SSC 50°C、1% SDS) でフィルターを洗浄した後、アルカリホスファターゼで標識されたDIG特異的な抗体による酵素免疫測定法 (ベーリンガー社) によって、5- プロモ 4- クロロ 3- インドリルリン酸とニトロブルーテトラゾリウム塩の発色反応でプローブがハイブリダイズしたクローンを検出した。検出方法は使用説明書に従った。

この結果、7個の陽性クローンが得られた。ストラタジーン社の推奨する方法で、これらcDNAをプラスミドpBluescript SK上に回収した。アガロースゲル電気泳動でcDNAの長さを調べたところ、最長 2.0 kb の挿入が認められた。

【0049】

(3) 塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、シーケンサー ABI373A (パーキンソンエルマー社) を用い、同社の推奨する蛍光試薬によるダイデオキシ シーケンス法で、cDNAの 3' および 5' 末端付近側の塩基配列を決定した。その結果、これら7クローンのうち5個のクローンは、互いに同じ塩基配列を持っており、cDNAの長さが異なるものと考えられた。このうちpSHGT8の全塩基配列を決定した。塩基配列の決定は、Kilo-Sequence 用deletionキット (宝

酒造)を用いて、一連の欠失クローンを得るか、もしくはpSHGT8の内部配列に特異的なオリゴプライマーを用いて、上述のように行った。

【0050】

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

pSHGT8に挿入されたcDNAは2062bpでありその中に1386bp(終止コドンを含む)からなるオープンリーディングフレーム(ORF)が見い出された。この配列を配列番号3に示す。このORFのアミノ酸配列は、シソのp3R4にコードされる5GTのアミノ酸配列と68%、p3R6にコードされるものとは64%の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の3GTとは22~25%、ペチュニアの3RTとは21%の相同性を示した。

【0051】

(5) 酵母における発現と酵素活性の測定

pSHGT8をBamHI/XhoIで消化して得られる約2.0kbのDNA断片とpYE22mをBamHI/SalIで消化して得られる約8kbのDNA断片を連結して得られるプラスミドをpYHGT8とした。実施例1同様にして、酵母菌体内でpYHGT8を発現し、pSHGT8によってコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、pYHGT8を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジン-3,5-ジグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物ができた。このことから、バーベナのpSHGT8のcDNAは5GTをコードすることがわかった。

【0052】

実施例3. トレニアの5GT遺伝子のクローニング

(1) cDNAライブラリーの作製

トレニア品種サマーウェーブブルー(サントリー(株))から花卉を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法によりRNAを抽出し、オリゴテックス(宝酒造(株))を用いて製造者が推奨する方法にてポリA+RNAを得た。グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法は、R.McGookin, Robert J.Slaterらの、Methods in Molecular Biology vol 2, (Humana Press Inc.1984)に詳細に示され

ている方法に従った。

【0053】

得られたポリA+RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cDNA合成キットを用いて2本鎖cDNAを合成し、さらにUni-ZAP XRクローニングキット（ストラタジーン社）を用いて、製造者の推奨する方法でcDNAライブラリーを作製した。

【0054】

(2) 5GTのcDNAのクローニング

上記のようにして得られたスファージライブラリーをシソのp3R4のcDNAをプローブとして実施例2と同様にしてスクリーニングした。この結果8個の陽性クローンが得られた。cDNAをプラスミドpBluescript SK上に回収したのち、アガロースゲル電気泳動でcDNAの長さを調べたところ、最長1.6 kbの挿入が認められた。

【0055】

(3) 塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、実施例2と同様にして両末端付近の塩基配列を決定した。その結果、これらのクローンのうち6個は互いに同じ塩基配列を持っており、cDNAの長さが異なるものと考えられた。この6クローンのうちpSTGT5の全塩基配列を決定した。

【0056】

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

pSTGT5に挿入されたcDNAは1671bpでありその中に1437bp（終止コドンを含む）からなるオープンリーディングフレーム（ORF）が見い出された。この配列を配列番号4に示す。このORFのアミノ酸配列は、シソのp3R4にコードされる5GTのアミノ酸配列と58%、p3R6にコードされるものとは57%、バーベナのpSHGT8にコードされるものとは57%の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の3GTとは19～23%、ペチュニアの3RTとは20%の相同性を示した。

【0057】

(5) 酵母における 5GT 遺伝子の発現

pSTGT5 を SmaI/KpnI で消化して得られる約 1.6 kb の DNA 断片と、pYE22m の EcoRI 切断を平滑化し、さらに KpnI 消化して得られる約 8 kb の DNA 断片を連結して得られるプラスミドを pYTG T5 とした。実施例 1 と同様にして、酵母菌体内で pYTG T5 を発現し、pSTGT5 にコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、pYTG T5 を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジン-3,5-ジグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物が得られた。このことから、トレニアの pSTGT5 の cDNA は 5GT をコードすることがわかった。

【0058】

【発明の効果】

以上のようにシソ、バーベナおよびトレニア由来のフラボノイドの 5 位に糖を転移する酵素 cDNA のクローニングと塩基配列の決定を行った。また、酵母での活性発現を行うことにより、分離した cDNA が 5GT をコードすることを明らかにした。この cDNA を適当な植物発現ベクターに接続し、植物に導入し、5GT の活性を付与したり、増加させたり、減少させたりすることにより植物の花色調節に利用することが可能となった。また、本酵素活性を利用することにより、植物の中であるいは試験管内でアントシアンの構造を改変し、より安定なアントシアンすることができる。

【0059】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：1507

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

起源

生物名：シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類：葉

直接の起源

ライブラリー名：cDNA library

クローン名：p3R4

配列

GAAAATTTCC ACAAAA ATG GTC CGC CGC CGC GTG CTG CTA GCA ACG TTT	49
Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe	
1 5 10	
CCT GCG CAA GGC CAC ATA AAT CCC GCC CTC CAA TTC GCC AAG AGA CTC	97
Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu	
15 20 25	
CTA AAA GCC GGC ACT GAC GTC ACA TTT TTC ACG AGC GTT TAT GCA TGG	145
Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp	
30 35 40	
CGC CGC ATG GCC AAC ACA GCC TCC GCC GCT GCC GGA AAC CCA CCG GGC	193
Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly	
45 50 55	
CTC GAC TTC GTG GCG TTC TCC GAC GGC TAC GAC GAC GGG CTG AAG CCC	241
Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro	
60 65 70 75	

TGC GGC GAC GGG AAG CGC TAC ATG TCC GAG ATG AAA GCC CGC GGC TCC	289
Cys Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala Arg Gly Ser	
80 85 90	
GAG GCC TTA AGA AAC CTC CTT CTC AAC AAC CAC GAC GTC ACG TTC GTC	337
Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn His Asp Val Thr Phe Val	
95 100 105	
GTC TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCG GAG GTG GCG CGT GAG TCC	385
Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Ser	
110 115 120	
CAG GTC CCG AGC GCC CTT CTC TGG GTC GAG CCC GCC ACC GTG CTG TGC	433
Gln Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr Val Leu Cys	
125 130 135	
ATA TAT TAC TTC TAC TTC AAC GGC TAC GCA GAC GAG ATC GAC GCC GGT	481
Ile Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile Asp Ala Gly	
140 145 150 155	
TCC GAC GAA ATT CAG CTC CCT CGG CTT CCA CCC CTG GAG CAG CGC AGT	529
Ser Asp Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Pro Leu Glu Gln Arg Ser	
160 165 170	
CTT CCG ACC TTT CTG CTG CCG GAG ACA CCG GAG AGA TTC CGG TTG ATG	577
Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Glu Thr Pro Glu Arg Phe Arg Leu Met	
175 180 185	
ATG AAG GAG AAG CTG GAA ACT TTA GAC GGT GAA GAG AAG GCG AAA GTG	625
Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys Ala Lys Val	
190 195 200	
TTG GTG AAC ACG TTT GAT GCG TTG GAG CCC GAT GCA CTC ACG GCT ATT	673
Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu Thr Ala Ile	
205 210 215	

AGT TGC GGG GTT CCG GTG GTG GCG GTG CCG CAG TGG TTT GAT CAG ACG 1153

Ser Cys Gly Val Pro Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr

365

370

375

ACG AAT GCG AAG CTG ATT GAG GAT GCG TGG GGG ACA GGG GTG AGA GTG 1201

~~Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val~~

380

385

390

395

AGA ATG AAT GAA GGG GGT GGG GTT GAT GGA TCT GAG ATA GAG AGG TGT 1249

Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Ser Glu Ile Glu Arg Cys

400

405

410

GTG GAG ATG GTG ATG GAT GGG GGT GAG AAG AGC AAA CTA GTG AGA GAA 1297

Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Lys Leu Val Arg Glu

415

420

425

AAT GCC ATA AAA TGG AAG ACT TTG GCC AGA GAA GCC ATG GGA GAG GAT 1345

Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Glu Ala Met Gly Glu Asp

430

435

440

GGA TCT TCA CTC AAG AAT CTC AAC GCC TTT CTT CAT CAA GTT GCA CGT 1393

Gly Ser Ser Leu Lys Asn Leu Asn Ala Phe Leu His Gln Val Ala Arg

445

450

455

GCT TAATACACAA AATGGCTTTC CACTTTTAAT CTACTCAAAC ACCGGTTCAA 1446

Ala

460

ATAAATATCC CCTTCCACTT CTTTCTATTT CACTATCACA TTTATAATTT TAGTAACAAA 1506

A

1507

【0060】

配列番号：2

配列の長さ：1470

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

起源

生物名: シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類: 葉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p 3 R 6

配列

ACCAAACCAA AACAAAATTT CCACAAAA ATG GTC CGC CGC CGC GTG CTG CTA	48
Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu	
1 5	
GCA ACG TTT CCG GCG CAA GGC CAC ATA AAT CCC GCC CTC CAA TTC GCC	96
Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala	
10 15 20	
AAG AGA CTC CTA AAA GCC GGC ACT GAC GTC ACG TTT TTC ACG AGC GTT	144
Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val	
25 30 35 40	
TAT GCA TGG CGC CGC ATG GCC AAC ACA GCC TCC GCC GCT GCC GGA AAC	192
Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn	
45 50 55	
CCA CCG GGC CTC GAC TTC GTG GCG TTC TCC GAC GGC TAC GAC GAC GGG	240
Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly	
60 65 70	
CTG AAG CCC GGC GGC GAC GGG AAG CGC TAC ATG TCC GAG ATG AAA GCC	288
Leu Lys Pro Gly Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala	
75 80 85	
CGC GGC TCC GAG GCC TTA AGA AAC CTC CTT CTC AAC AAC GAC GAC GTC	336
Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn Asp Asp Val	
90 95 100	

ACT TTC GTC GTC TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCG GAG GTG GCG	384
Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Glu Val Ala	
105 110 115 120	
CGT TTG TCC CAC GTC CCG ACC GCC CTT CTC TGG GTC GAG CCC GCC ACC	432
Arg Leu Ser His Val Pro Thr Ala Leu Leu Trp Val Glu Pro Ala Thr	
125 130 135	
GTG CTG TGC ATA TAC CAC TTC TAC TTC AAC GGC TAC GCA GAC GAG ATC	480
Val Leu Cys Ile Tyr His Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Glu Ile	
140 145 150	
GAC GCC GGT TCC AAT GAA ATT CAG CTC CCT CGG CTT CCA TCC CTG GAG	528
Asp Ala Gly Ser Asn Glu Ile Gln Leu Pro Arg Leu Pro Ser Leu Glu	
155 160 165	
CAG CGC AGT CTT CCG ACG TTT CTG CTG CCT GCG ACG CCG GAG AGA TTC	576
Gln Arg Ser Leu Pro Thr Phe Leu Leu Pro Ala Thr Pro Glu Arg Phe	
170 175 180	
CGG TTG ATG ATG AAG GAG AAG CTG GAA ACT TTA GAC GGT GAA GAG AAG	624
Arg Leu Met Met Lys Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Gly Glu Glu Lys	
185 190 195 200	
GCG AAA GTA TTG GTG AAC ACG TTT GAT GCG TTG GAG CCC GAT GCA CTC	672
Ala Lys Val Leu Val Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Pro Asp Ala Leu	
205 210 215	
ACG GCT ATT GAT AGG TAT GAG TTG ATC GGG ATC GGG CCG TTG ATT CCC	720
Thr Ala Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Gly Ile Gly Pro Leu Ile Pro	
220 225 230	
TCC GCC TTC TTG GAC GGC GAA GAT CCC TCC GAA ACG TCT TAC GGC GGC	768
Ser Ala Phe Leu Asp Gly Glu Asp Pro Ser Glu Thr Ser Tyr Gly Gly	
235 240 245	

GAT CTT TTC GAA AAA TCG GAG GAG AAT AAC TGC GTG GAG TGG TTG AAC 816
 Asp Leu Phe Glu Lys Ser Glu Glu Asn Asn Cys Val Glu Trp Leu Asn

250 255 260

TCG AAG CCG AAA TCT TCG GTG GTG TAT GTG TCG TTT GGG AGC GTT TTG 864
~~Ser Lys Pro Lys Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Val Leu~~

265 270 275 280

AGG TTT CCA AAG GCA CAA ATG GAA GAG ATT GGG AAA GGG CTA TTA GCC 912
 Arg Phe Pro Lys Ala Gln Met Glu Glu Ile Gly Lys Gly Leu Leu Ala

285 290 295

TGC GGA AGG CCC TTT TTA TGG ATG ATA CGA GAA CAG AAG AAT GAC GAC 960
 Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Met Ile Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp

300 305 310

GGC GAA GAA GAA GAA GAA GAA GAA GAG TTG AGT TGC ATT GGG GAA TTG 1008
 Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu

315 320 325

AAA AAA ATG GGG AAA ATA GTG TCG TGG TGC TCG CAG TTG GAG GTT CTG 1056
 Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu

330 335 340

GCG CAC CCT GCG TTG GGA TGT TTC GTG ACG CAT TGT GGG TGG AAC TCG 1104
 Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser

345 350 355 360

GCT GTG GAG AGC TTG AGT TGC GGG ATT CCG GTG GTG GCG GTG CCG CAG 1152
 Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Ile Pro Val Val Ala Val Pro Gln

365 370 375

TGG TTT GAT CAG ACG ACG AAT GCG AAG CTG ATT GAG GAT GCG TGG GGG 1200
 Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly

380 385 390

ACA GGG GTG AGA GTG AGA ATG AAT GAA GGG GGT GGG GTT GAT GGA TGT 1248
Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Cys

395

400

405

GAG ATA GAA AGG TGT GTG GAG ATG GTG ATG GAT GGG GGT GAC AAG ACC 1296

~~Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr~~

410

415

420

AAA CTA GTG AGA GAA AAT GCC ATC AAA TGG AAG ACT TTG GCC AGA CAA 1344

Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln

425

430

435

440

GCC ATG GGA TAGGATGGAT CTTCACTCAA CAATCTCAAC GCCTTTCTTC 1393

Ala Met Gly

443

GTCAAGTTGC ACACTTTTAA TCTGCTCAAA CAGCGGTTCA AATAAATATC CCCTTCCACT 1453

TAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

1470

【0061】

配列番号：3

配列の長さ：2062

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

起源

生物名：バーベナ (Verbena hybrida)

組織の種類：花卉

直接の起源

ライブラリー名：cDNA library

クローン名：pSHGT8

配列

ATTTTACCAA AAAAATAAAA AAAAA ATG AGC AGA GCT CAC GTC CTC TTG GCC 52

Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala

1 5

ACA TTC CCA GCA CAG GGA CAC ATA AAT CCC GCC CTT CAA TTC GCC AAG 100

~~Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys~~

10 15 20 25

CGT CTC GCA AAT GCC GAC ATT CAA GTC ACA TTC TTC ACC AGC GTC TAC 148

Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr

30 35 40

GCA TGG CGC CGC ATG TCC AGA ACC GCC GCT GGC TCA AAC GGG CTC ATC 196

Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile

45 50 55

AAT TTT GTG TCG TTT TCC GAC GGG TAT GAC GAC GGG TTA CAG CCC GGA 244

Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly

60 65 70

GAC GAT GGG AAG AAC TAC ATG TCG GAG ATG AAA AGC AGA GGT ATA AAA 292

Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys

75 80 85

GCC TTG AGC GAT ACT CTT GCA GCC AAT AAT GTC GAT CAA AAA AGC AGC 340

Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser

90 95 100 105

AAA ATC ACG TTC GTG GTG TAC TCC CAC CTC TTT GCA TGG GCG GCC AAG 388

Lys Ile Thr Phe Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Lys

110 115 120

GTG GCG CGT GAG TTC CAT CTC CGG AGC GCG CTA CTC TGG ATT GAG CCA 436

Val Ala Arg Glu Phe His Leu Arg Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro

125 130 135

特平 9-200571

GCT ACG GTG TTG GAT ATA TTT TAC TTT TAT TTC AAC GGC TAT AGC GAC	484
Ala Thr Val Leu Asp Ile Phe Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ser Asp	
140 145 150	
GAA ATC GAT GCG GGT TCG GAT GCT ATT CAC TTG CCC GGA GGA CTC CCA	532
Glu Ile Asp Ala Gly Ser Asp Ala Ile His Leu Pro Gly Gly Leu Pro	
155 160 165	
GTG CTG GCC CAG CGT GAT TTA CCG TCT TTC CTT CTT CCT TCC ACG CAT	580
Val Leu Ala Gln Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Thr His	
170 175 180 185	
GAG AGA TTC CGT TCA CTG ATG AAG GAG AAA TTG GAA ACT TTA GAA GGT	628
Glu Arg Phe Arg Ser Leu Met Lys Glu Lys-Leu-Glu-Thr Leu Glu Gly	
190 195 200	
GAA GAA AAA CCT AAG GTC TTG GTG AAC AGC TTT GAT GCG TTG GAG CCT	676
Glu Glu Lys Pro Lys Val Leu Val Asn Ser Phe Asp Ala Leu Glu Pro	
205 210 215	
GAT GCG CTC AAG GCC ATT GAT AAG TAC GAG ATG ATT GCA ATC GGG CCG	724
Asp Ala Leu Lys Ala Ile Asp Lys Tyr Glu Met Ile Ala Ile Gly Pro	
220 225 230	
TTG ATT CCT TCC GCA TTC TTG GAC GGT AAA GAT CCT TCG GAC AGG TCT	772
Leu Ile Pro Ser Ala Phe Leu Asp Gly Lys Asp Pro Ser Asp Arg Ser	
235 240 245	
TTC GGC GGA GAT TTG TTC GAG AAA GGG TCG AAT GAC GAC GAT TGC CTC	820
Phe Gly Gly Asp Leu Phe Glu Lys Gly Ser Asn Asp Asp Asp Cys Leu	
250 255 260 265	
GAA TGG TTG AGC ACG AAT CCT CGA TCT TCG GTG GTT TAC GTT TCG TTC	868
Glu Trp Leu Ser Thr Asn Pro Arg Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe	
270 275 280	

GGA AGC TTC GTT AAT ACG ACG AAG TCG CAA ATG GAA GAG ATA GCA AGA	916
Gly Ser Phe Val Asn Thr Thr Lys Ser Gln Met Glu Glu Ile Ala Arg	
285 290 295	
GGG CTG TTA GAT TGT GGG AGG CCG TTT TTG TGG GTG GTA AGA GTA AAC	964
Gly Leu Leu Asp Cys Gly Arg Pro Phe Leu Trp Val Val Arg Val Asn	
300 305 310	
GAA GGA GAA GAG GTA TTG ATA AGT TGC ATG GAG GAG TTG AAA CGA GTG	1012
Glu Gly Glu Glu Val Leu Ile Ser Cys Met Glu Glu Leu Lys Arg Val	
315 320 325	
GGG AAA ATT GTA TCT TGG TGT TCT CAA TTG GAA GTC CTG ACG CAT CCC	1060
Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Thr His Pro	
330 335 340 345	
TCG TTG GGA TGT TTC GTG ACA CAC TGC GGG TGG AAT TCG ACT CTA GAG	1108
Ser Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Thr Leu Glu	
350 355 360	
AGT ATA TCT TTC GGG GTT CCG ATG GTG GCT TTT CCG CAG TGG TTC GAT	1156
Ser Ile Ser Phe Gly Val Pro Met Val Ala Phe Pro Gln Trp Phe Asp	
365 370 375	
CAA GGG ACG AAT GCG AAG CTG ATG GAG GAT GTG TGG AGG ACG GGT GTG	1204
Gln Gly Thr Asn Ala Lys Leu Met Glu Asp Val Trp Arg Thr Gly Val	
380 385 390	
AGA GTG AGA GCT AAT GAG GAG GGT AGC GTC GTT GAT GGT GAT GAA ATT	1252
Arg Val Arg Ala Asn Glu Glu Gly Ser Val Val Asp Gly Asp Glu Ile	
395 400 405	
AGG AGA TGT ATT GAG GAG GTT ATG GAT GGG GGA GAA AAG AGT AGG AAA	1300
Arg Arg Cys Ile Glu Glu Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Arg Lys	
410 415 420 425	

CTT AGA GAG AGT GCT GGC AAG TGG AAG GAT TTG GCA AGA AAA GCT ATG 1348

Leu Arg Glu Ser Ala Gly Lys Trp Lys Asp Leu Ala Arg Lys Ala Met

430

435

440

GAG GAA GAT GGA TCT TCA GTT AAC AAC CTC AAG GTC TTT CTT GAT GAG 1396

~~Glu Glu Asp Gly Ser Ser Val Asn Asn Leu Lys Val Phe Leu Asp Glu~~

445

450

455

GTT GTA GGT ATC TAAAGACGTA AATGAGGTCC CCATAGGCAA AATTGCAAAT 1448

Val Val Gly Ile

460 461

TTCATCTCGT AAGTTGAATA CTTTTGGCT TTAATTTTGT TCGAGTTTGT TTTTCAAAAT 1508

TTATCTTGTA ATTTTACATT GAGTGTAAT TTAGTCTGAT TTTAACTGGA AAAATATAAA 1568

ATTCATTGTT GAGACTCTTC ATCAAAATCA TCTGATTTC TTTATTGTCT TGGTCAAAAT 1628

TCTCATATCA ATTGGAAAAA ATAAATTCA AAATCGTCCA ATTTTGAACC AAGAAAGAAG 1688

TATAATTTGA CCAAAATAAT AAAAGGATTC AAGTGATCTT GATGAAGTGT CTGAGCGACG 1748

AGTTCTATAT TTTTCCACCG AATTTCTAAC GAGTTTTTGA ATTTTTTTTA GCCAAAATCG 1808

GACTAACTTT GTACAAAATG AAAAGTTATA TGATGAAATT TAAAAAACA AACTCAGACA 1868

ATAATAAAGC CCGAAAGTAG TAAAATTACC TGACGAAATT TGCAATTTTCG CCTCCTATTT 1928

TAATTTTTTT GGTGTGTTTA ATAAATCGGT TATTTTACTT TTAATTAAAA TAAAAGTGAG 1988

ATGCATGATA GCTTGGTGAG TATATATGAG TTGATGGTAA TGTACGATAT TTTCTAAAAA 2048

AAAAAAAAAA AAAA 2062

【0062】

配列番号：4

配列の長さ：1671

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

起源

生物名：トレニア

組織の種類：花卉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: pSTGT5

配列

AACACATAAA AAAAAAATAA AAGAAGAAAT AATTAAAAAA AAAA ATG GTT AAC 53

Met Val Asn

1

AAA CGC CAT ATT CTA CTA GCA ACA TTC CCA GCA CAA GGC CAC ATA AAC 101
 Lys Arg His Ile Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn

5 10 15

CCT TCT CTC GAG TTC GCC AAA AGG CTC CTC AAC ACC GGA TAC GTC GAC 149
 Pro-Ser-Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly Tyr Val Asp

20 25 30 35

CAA GTC ACA TTC TTC ACG AGT GTA TAC GCA TTG AGA CGC ATG CGC TTC 197
 Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Leu Arg Arg Met Arg Phe

40 45 50

GAA ACC GAT CCG AGC AGC AGA ATC GAT TTC GTG GCA TKT YCA GAT TCT 245
 Glu Thr Asp Pro Ser Ser Arg Ile Asp Phe Val Ala X X Asp Ser

55 60 65

TAC GAT GAT GGC TTA AAG AAA GGC GAC GAT GGC AAA AAC TAC ATG TCG 293
 Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Lys Gly Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser

70 75 80

GAG ATG AGA AAG CGC GGA ACG AAG GCC TTA AAG GAC ACT CTT ATT AAG 341
 Glu Met Arg Lys Arg Gly Thr Lys Ala Leu Lys Asp Thr Leu Ile Lys

85 90 95

CTC AAC GAT GCT GCG ATG GGA AGT GAA TGT TAC AAT CGC GTG AGC TTT 389
 Leu Asn Asp Ala Ala Met Gly Ser Glu Cys Tyr Asn Arg Val Ser Phe

100 105 110 115

GTG GTG TAC TCT CAT CTA TTT TCG TGG GCA GCT GAA GTG GCG CGT GAA	437
Val Val Tyr Ser His Leu Phe Ser Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu	
120 125 130	
GTC GAC GTG CCG AGT GCC CTT CTT TGG ATT GAA CCG GCT ACG GTT TTC	485
Val Asp Val Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala Thr Val Phe	
135 140 145	
GAT GTG TAC TAT TTT TAC TTC AAT GGG TAT GCC GAT GAT ATC GAT GCG	533
Asp Val Tyr Tyr Phe Tyr Phe Asn Gly Tyr Ala Asp Asp Ile Asp Ala	
150 155 160	
GGC TCA GAT CAA ATC CAA CTG CCC AAT CTT CCG CAG CTC TCC AAG CAA	581
Gly Ser Asp Gln Ile Gln Leu Pro Asn Leu Pro Gln Leu Ser Lys Gln	
165 170 175	
GAT CTC CCC TCT TTC CTA CTC CCT TCG AGC CCC GCG AGA TTC CGA ACC	629
Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Ser Ser Pro Ala Arg Phe Arg Thr	
180 185 190 195	
CTA ATG AAA GAA AAG TTC GAC ACG CTC GAC AAA GAA CCG AAA GCG AAG	677
Leu Met Lys Glu Lys Phe Asp Thr Leu Asp Lys Glu Pro Lys Ala Lys	
200 205 210	
GTC TTG ATA AAC ACG TTC GAC GCA TTA GAA ACC GAA CAA CTC AAA GCC	725
Val Leu Ile Asn Thr Phe Asp Ala Leu Glu Thr Glu Gln Leu Lys Ala	
215 220 225	
ATC GAC AGG TAT GAA CTA ATA TCC ATC GGC CCA TTA ATC CCA TCA TCG	773
Ile Asp Arg Tyr Glu Leu Ile Ser Ile Gly Pro Leu Ile Pro Ser Ser	
230 235 240	
ATA TTC TCA GAT GGC AAC GAC CCC TCA TCA AGC AAC AAA TCC TAC GGT	821
Ile Phe Ser Asp Gly Asn Asp Pro Ser Ser Ser Asn Lys Ser Tyr Gly	
245 250 255	

GGA GAC CTC TTC AGA AAA GCC GAT GAA ACT TAC ATG GAC TGG CTA AAC 869

Gly Asp Leu Phe Arg Lys Ala Asp Glu Thr Tyr Met Asp Trp Leu Asn

260 265 270 275

TCA AAA CCC GAA TCA TCG GTC GTT TAC GTT TCG TTC GGG AGC CTC CTG 917

~~Ser Lys Pro Glu Ser Ser Val Val Tyr Val Ser Phe Gly Ser Leu Leu~~

280 285 290

AGG CTC CCG AAA CCC CAA ATG GAA GAA ATA GCA ATA GGG CTT TCA GAC 965

Arg Leu Pro Lys Pro Gln Met Glu Glu Ile Ala Ile Gly Leu Ser Asp

295 300 305

ACC AAA TCG CCA GTT CTC TGG GTG ATA AGA AGA AAC GAA GAG GGC GAC 1013

Thr Lys Ser Pro Val Leu Trp Val Ile Arg Arg Asn Glu Glu Gly Asp

310 315 320

GAA CAA GAG CAA GCA GAA GAA GAA GAG AAG CTG CTG AGC TTC TTT GAT 1061

Glu Gln Glu Gln Ala Glu Glu Glu Glu Lys Leu Leu Ser Phe Phe Asp

325 330 335

CGT CAC GGA ACT GAA CGA CTC GGG AAA ATC GTG ACA TGG TGC TCA CAA 1109

Arg His Gly Thr Glu Arg Leu Gly Lys Ile Val Thr Trp Cys Ser Gln

340 345 350 355

TTG GAT GTT CTG ACG CAT AAG TCG GTG GGA TGC TTC GTG ACG CAT TGC 1157

Leu Asp Val Leu Thr His Lys Ser Val Gly Cys Phe Val Thr His Cys

360 365 370

GGT TGG AAT TCT GCT ATC GAG AGC CTG GCT TGT GGT GTG CCC GTG GTG 1205

Gly Trp Asn Ser Ala Ile Glu Ser Leu Ala Cys Gly Val Pro Val Val

375 380 385

TGC TTT CCT CAA TGG TTC GAT CAA GGG ACT AAT GCG AAG ATG ATC GAA 1253

Cys Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys Met Ile Glu

390 395 400

GAT GTG TGG AGG AGT GGT GTG AGA GTC AGA GTG AAT GAG GAA GGC GGC 1301

Asp Val Trp Arg Ser Gly Val Arg Val Arg Val Asn Glu Glu Gly Gly

405

410

415

GTT GTT GAT AGG CGT GAG ATT AAG AGG TGC GTC TCG GAG GTT ATA AAG 1349

~~Val Val Asp Arg Arg Glu Ile Lys Arg Cys Val Ser Glu Val Ile Lys~~

420

425

430

435

AGT CGA GAG TTG AGA GAA AGC GCA ATG ATG TGG AAG GGT TTG GCT AAA 1397

Ser Arg Glu Leu Arg Glu Ser Ala Met Met Trp Lys Gly Leu Ala Lys

440

445

450

GAA GCT ATG GAT GAA GAA CGT GGA TCA TCA ATG AAC AAT CTG AAG AAT 1445

~~Glu Ala Met Asp Glu Glu Arg Gly Ser Ser Met Asn Asn Leu Lys Asn~~

455

460

465

TTT ATT ACT AGG ATT ATT AAT GAA AAT GCC TCA TAAGTTGTAC 1488

Phe Ile Thr Arg Ile Ile Asn Glu Asn Ala Ser

470

475

478

TATATATGTT ATTATTGTTG TTATGGACGT CGAATTAAGT ATTAGTTAAA TGATATGTAT 1548

TTAGAGGAAG GCCAAAACGG GCTACACCCG GCAGGCCACG GGTGGAAGAA GCGGCCATG 1608

ATTTAAAATA TATATTTTAA AATAAATATT TTCTACTATT AAACATAAAAA AAAAAAAAAA 1668

AAA 1671

【0063】

配列番号：5

配列の長さ：1437

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

起源

生物名：シソ (*Perilla frutescens*)

組織の種類：葉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p8R6

配列

TTCAAACTC ATAACGTGAT TGAGCTAATG TGCACATCTT CCTCTTCAAA GTCTACAGTG 60
~~TCATGCTAGC AGCATCATCA TGATCAATCT CTTTATAATG AGGAGAATGG AGTAACAAGG 120~~
 AGTGGGTTTT GTTACTCAGC TTCAACCTAC GTACGTACTA CTA CTGACTC AACTCTCAAG 180
 AGAATGAATA TAATATATAA TGGGCGATAG ATCTTTGTAG ATATGTAGGT GTAGCCTGCA 240
 GGTGGTTAAT TAATTTCCGG TGTGGGAAAA TAAATAAATA AATAAATATA GCG ATG AGC 299

Met Ser

1

AGC AGC AGC AGC AGA AGG TGG AGA GAG AAT GAG GGG ATG CGA AGG ACA 347

~~Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg Arg Thr~~

5

10

15

TTG CTG GGG TTG GGT TTG GGG CAG TTG GTT TCT TTC GAT TTG GCT ATC 395
 Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu Ala Ile

20

25

30

ATG ACC TTT TCT GCT TCT TTG GTT TCA ACC ACA GTG GAT GCA CCA CTT 443
 Met Thr Phe Ser Ala Ser Leu Val Ser Thr Thr Val Asp Ala Pro Leu

35

40

45

50

ACT ATG TCG TTC ACT ACA TAC ACT GTT GTG GCC CTG CTC TAT GGA ACC 491
 Thr Met Ser Phe Thr Thr Tyr Thr Val Val Ala Leu Leu Tyr Gly Thr

55

60

65

ATC TTG CTT TAC CGC CGC CAC AAA TTC TTG GTT CCA TGG TAC TGG TAT 539
 Ile Leu Leu Tyr Arg Arg His Lys Phe Leu Val Pro Trp Tyr Trp Tyr

70

75

80

GCT CTC CTG GGG TTC GTG GAC GTC CAC GGC AAT TAT CTT GTT AAT AAA 587
 Ala Leu Leu Gly Phe Val Asp Val His Gly Asn Tyr Leu Val Asn Lys

85

90

95

GCA TTC GAG TTG ACA TCG ATT ACG AGT GTG AGC ATA CTG GAT TGT TGG	635
Ala Phe Glu Leu Thr Ser Ile Thr Ser Val Ser Ile Leu Asp Cys Trp	
100 105 110	
ACA ATC GTG TGG TCC ATC ATC TTT ACA TGG ATG TTC CTA GGC ACA AAA	683
Thr Ile Val Trp Ser Ile Ile Phe Thr Trp Met Phe Leu Gly Thr Lys	
115 120 125 130	
TAC TCT GTA TAC CAG TTT GTC GGT GCT GCT ATT TGT GTA GGA GGC CTC	731
Tyr Ser Val Tyr Gln Phe Val Gly Ala Ala Ile Cys Val Gly Gly Leu	
135 140 145	
CTC CTC GTG CTT CTT TCC GAC TCA GGG GTC ACT GCT GCT GGT TCG AAT	779
Leu Leu Val Leu Leu Ser Asp Ser Gly Val Thr Ala Ala Gly Ser Asn	
150 155 160	
CCT CTT TTG GGT GAT TTT CTT GTC ATA ACA GGC TCT ATT TTG TTC ACA	827
Pro Leu Leu Gly Asp Phe Leu Val Ile Thr Gly Ser Ile Leu Phe Thr	
165 170 175	
CTC AGC ACT GTT GGT CAG GAA TAC TGC GTG AAG AGG AAA GAT CGT ATT	875
Leu Ser Thr Val Gly Gln Glu Tyr Cys Val Lys Arg Lys Asp Arg Ile	
180 185 190	
GAA GTA GTA GCA ATG ATC GGT GTA TTT GGT ATG CTC ATC AGT GCA ACC	923
Glu Val Val Ala Met Ile Gly Val Phe Gly Met Leu Ile Ser Ala Thr	
195 200 205 210	
GAG ATT ACT GTG CTG GAG AGG AAT GCC CTC TCA TCA ATG CAG TGG TCT	971
Glu Ile Thr Val Leu Glu Arg Asn Ala Leu Ser Ser Met Gln Trp Ser	
215 220 225	
ACT GGA CTT TTG GCA GCC TAT GTT GTT TAT GCA CTG TCC AGC TTC CTC	1019
Thr Gly Leu Leu Ala Ala Tyr Val Val Tyr Ala Leu Ser Ser Phe Leu	
230 235 240	

TTC TGC ACA CTC ACC CCT TTT CTT CTC AAG ATG AGT GGC GCT GCA TTT 1067
Phe Cys Thr Leu Thr Pro Phe Leu Leu Lys Met Ser Gly Ala Ala Phe

245

250

255

TTC AAT CTT TCC ATG CTT ACA TCT GAT ATG TGG GCT GTT GCA ATT AGG 1115
~~Phe Asn Leu Ser Met Leu Thr Ser Asp Met Trp Ala Val Ala Ile Arg~~

260

265

270

ACA TTC ATA TAC AAC CAG GAG GTT GAT TGG TTA TAC TAT TTG GCC TTT 1163
Thr Phe Ile Tyr Asn Gln Glu Val Asp Trp Leu Tyr Tyr Leu Ala Phe

275

280

285

290

TGT CTC GTT GTT GTT GGA ATA TTC ATA TAT ACA AAA ACA GAG AAG GAT 1211
Cys Leu Val Val Val Gly Ile Phe Ile Tyr Thr Lys Thr Glu Lys Asp

295

300

305

CCT AAC AAT ACG AGA GCC CTT GAG AAT GGA AAC TTG GAT CAT GAA TAT 1259
Pro Asn Asn Thr Arg Ala Leu Glu Asn Gly Asn Leu Asp His Glu Tyr

310

315

320

AGT CTC CTT GAG GAT CAA GAT GAC ACA CCA AGA AAA CCA TAGCTAGCTT 1308
Ser Leu Leu Glu Asp Gln Asp Asp Thr Pro Arg Lys Pro

325

330

335

TGCCCACAAT CTTTTCATCA ACAGTTTAA ATAATTCGTG AGGGGGAGAG AGATCGAGAT 1368

ACTAATTAAT GGACGTCTAT TATATAGTTG GAGGTTTTTG TTTTATTTAT TTATTTGAGT 1428

AAAAAAAAA 1437

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する新規酵素の提供。

【解決手段】 配列番号：1～4のいずれかに記載のアミノ酸配列を有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子、及び上記アミノ酸配列に対して修飾されたアミノ酸配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子、並びに該遺伝子を用いる前記蛋白質の製造方法。

植物の色の人工的改良等のために使用することができる。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000001904
【住所又は居所】	大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
【氏名又は名称】	サントリー株式会社
【代理人】	申請人
【識別番号】	100077517
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	石田 敬
【選任した代理人】	
【識別番号】	100087871
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	福本 積
【選任した代理人】	
【識別番号】	100088269
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	戸田 利雄
【選任した代理人】	
【識別番号】	100082898
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	西山 雅也

特平 9-200571

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001904]

1. 変更年月日	1990年 8月13日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号
氏 名	サントリー株式会社
